

カイコ NPV の膜タンパク質遺伝子 (*gp64*) 変異による増殖特性変化

応用分子生物学講座 応用分子昆虫学分野

河野 佳子

(背景と目的)

カイコ核多角体病ウイルス(*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus: BmNPV)を利用したベクター系は、真核細胞における外来タンパク質発現系の中で最も効率の良い系の1つとして知られているが増殖機構には不明な点が多い。このため、本ベクター系を更に卓越した有用タンパク質生産系に発展させるためには、ウイルスの増殖機構を解明する事が必要である。本研究室において新規に分離された BmNPV (H4) は、標準株 (T3) と比べて培養細胞における増殖性が極めて低いにも関わらず、個体では T3 株より増殖速度が速いことが明らかとなった。このことから、H4 株は BmNPV の増殖特性を決定する要因の解析に良い研究材料であると考えられる。

本研究では、両株の異なる増殖特性の原因がウイルス (BV) の感染 (侵入) 段階にあるのではないかと考え、侵入時に主要な役割を果たすウイルス膜タンパク質 (GP64) とウイルスの増殖特性の関係について解析した。

(方法)

まず、両株の GP64 のアミノ酸配列を比較した。次に、H4 株に T3 株の *gp64* を組換えたキメラウイルスを相同組換えによって作製し、培養細胞および個体に接種し、定量的 real-timePCR によるウイルス増殖量、SDS-PAGE によるウイルスタンパク質 (多角体タンパク質) 発現量、およびプラークサイズの比較を行った。さらに、これらのウイルスを培養細胞に一定時間接触させた後、定量的 real-timePCR により細胞画分に存在するウイルス DNA 量を定量することでウイルスの培養細胞への吸着性を比較した。

(結果および考察)

両株の GP64 のアミノ酸配列は 6 箇所では異なっていた。この 6 アミノ酸の変異箇所は BmNPV と近縁の *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus (AcMNPV) において、宿主細胞のレセプターへの吸着に関わると報告されているアミノ酸位置に近接しており、H4 株では GP64 の 6 アミノ酸変異による立体構造の変化が宿主細胞への吸着効率に変化を生じさせ、それが感染能力に何らかの影響を与えている可能性が考えられた。そこで、T3 株の GP64 を H4 株に導入したところ、このキメラウイルスは培養細胞および個体において H4 株と T3 株の間的な増殖特性を示した。また、培養細胞へのウイルスの吸着量は、T3 株 > キメラウイルス > H4 株であった。以上の結果から、H4 株と T3 株の増殖特性の違いは GP64 による吸着効率の変化が 1 つの原因であること、また、キメラウイルスの増殖特性が H4 株と T3 株の間的なであったことから、両株の増殖特性の違いに GP64 以外の因子も関わっていることが推定された。